Extrait des *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*
(Séance du 18 Janvier 1902).



Expériences sur la filtration du virus claveleux,

par M. A. Borrel.

Les pustules vaccinale, variolique, claveleuse montrent au point de vue histologique une analogie évidente ; et on a décrit dans les cellules épithéliales de ces pustules des parasites intra-cellulaires dont le *Cytoricles vaccinæ* est le prototype : comme pour le cancer, il y a une théorie coccidienne des maladies éruptives.

Le parasite du cancer reste à trouver ; il semble que la démonstration en sera particulièrement délicate à cause de la difficulté d'expérimentation ; mais les maladies éruptives sont plus abordables, et la clavelée ou variole ovine nous a paru constituer un excellent sujet d'étude ; l'objet de la présente note est de prouver que le virus claveleux doit être rangé dans le groupe des microbes *petits* puisque, dans certaines conditions, il passe à travers la paroi des filtres, et que le filtrat virulent ensemencé dans le bouillon à 37 degrés reste stérile.

Quelques mots sur la maladie expérimentale.

La clavelée est une maladie du mouton; elle peut être reproduite facilement par inoculation expérimentale. Au point d'inoculation sous-cutanée, il se développe, vers le sixième jour, un petit nodule, marqué bientôt par une tache rouge qui s'étale rapidement ; il se produit une grosse induration de 5 à 6 centimètres de diamètre, par épaississement du tissu épithélial et infiltration œdémateuse du derme. Au neuvième, dixième jour, des pustules plus petites apparaissent sur tout le corps; la mort survient du douzième au dix-huitième jour. A l'autopsie, on trouve des pustules dans les viscères : dans le poumon toujours, dans le rein souvent, plus rarement dans le pancréas (sous forme de petites tumeurs), le foie, l'estomac, l'intestin ; toutes ces pustules contiennent le virus.

Au point de vue histologique, la lésion claveleuse est caractérisée par la présence, dans le derme et le stroma des viscères, *de grands éléments à noyau vacuolisé, d'origine mésodermique*, avec des inclusions qui ont été décrites comme parasites; de pareilles inclusions se retrouvent dans les cellules épithéliales cutanées; nous les considérons comme des leucocytes polynucléaires en voie de résorption.

La pustule pulmonaire est particulièrement intéressante; elle montre une néoformation de véritables acini ; l'endothélium pulmonaire reprend le type épithélial ; l'épithélium bronchique prolifère surabondamment ; l'aspect microscopique est celui d'une tumeur adénomateuse ; les grandes cellules claveleuses spécifiques pseudo-parasitées sont éparses dans la trame conjonctive des parois alvéolaires.

Pour étudier le virus claveleux au point de vue de la filtration, j'ai surtout utilisé le raclage superficiel des pustules d'inoculation recueilli après la mort de l'animal et dilué dans une grande quantité d'eau : les couches épidermiques d'une seule pustule peuvent être dissociées dans 100 centimètres cubes d'eau ; la suspension louche ainsi obtenue peut être étendue au millième et, dans certaines expériences, au dix-millième ; elle est encore virulente.

Une expérience première de filtration sur Berkefeld donna un résultat positif, et le liquide, stérile dans le bouillon à 37 degrés, se montra virulent : des faits de même ordre ont été signalés par M. Lœffler pour la fièvre aphteuse, par MM. Nocard, Roux et nous-même pour la péripneumonie, par M. Nocard pour la horse-sickness. J'ai été conduit à étudier de plus près les conditions de la filtration.

Pour ces expériences, j'ai utilisé des bougies Berkefeld et des bougies de porcelaine à débits variés. Pour les travaux de laboratoire, M. Chamberland a mis à notre disposition des bougies de porosité variable (F^2, F^3..., F^{10}) débitant deux, trois quatre et jusqu'à dix fois plus que les bougies F employées pour la filtration ordinaire.

Dans le cas d'une filtration *rapide, extemporanée*, sous pression de poire de caoutchouc, le virus claveleux passe quelquefois à la bougie Berkefeld, jamais à la bougie F, presque toujours aux bougies F^4, F^5, etc., jusqu'aux bougies F^{10} dont le débit, toutes choses égales, est dix fois supérieur à celui de la bougie F ordinaire.

Dans toutes ces filtrations, le liquide ensemencé en bouillon à 37 degrés reste stérile, et pourtant si la dilution a été faite avec de l'eau de conduite, la filtration laisse passer des microbes particulièrement petits, mobiles, surtout des vibrions, qui paraissent et se cultivent très bien dans le liquide filtré lui-même simplement conservé à 20 degrés. Le passage de ces vibrions peut, dans ces conditions d'expérience, servir de test pour le passage du virus.

L'étude de ces microbes d'origine hydrique est intéressante, elle fait l'objet de la note suivante.

Pour avoir le virus claveleux débarrassé de tous les microbes d'impureté, il suffit de faire les dilutions avec de l'eau bouillie : le liquide filtré, stérile dans toutes les conditions de culture jusqu'ici réalisées, reste virulent pendant longtemps.

Dans ces cas de filtration rapide, extemporanée, jamais le virus ni les vibrions des eaux ne passent à la bougie F.

Il en est tout autrement si, sur la bougie F, on filtre d'une façon continue de un à sept jours : tout d'abord, rien ne passe, mais le quatrième ou le cinquième jour des microbes d'impureté, mobiles toujours, et d'abord les vibrions de l'eau, traversent le filtre, le liquide devient virulent.

Ces études sur la filtration des virus sont à poursuivre ; d'abord elles

nous fournissent un moyen commode d'obtenir du virus claveleux pur, et elles paraissent démontrer que les formations intra-cellulaires décrites comme parasites dans la vaccine, la variole, la clavelée ne sauraient être considérées comme parasites ; elles orientent les recherches du côté de microbes analogues à ceux de la péripneumonie ou de la fièvre aphteuse.

Microbes des eaux et culture d'un protozoaire minimal,

Dans les expériences de filtration qui font l'objet de la note précédente, j'ai eu l'occasion d'étudier toute une flore de microbes mobiles, petits, parmi lesquels un protozoaire parfaitement caractérisé, *à peu près invisible à l'état vivant;* ces microbes se développent dans des liquides filtrés peu riches en matériaux nutritifs, simples macérations rapides de cellules épithéliales claveleuses ; ils sont mis en évidence, macroscopiquement, par une légère opalescence du liquide et microscopiquement par la méthode de coloration de Lœffler (mordant ferro-tannique et fuchsine phéniquée).

Lorsqu'on racle la surface épithéliale d'une pustule, et qu'on délaie le raclage dans de l'eau de conduite, on obtient par la filtration sur certaines bougies un liquide qui paraît stérile à l'ensemencement dans le bouillon ordinaire à 37 degrés ; mais le liquide lui-même, conservé à la température de 20 degrés, devient, après cinq à six jours, légèrement opalescent ; si on colore par la méthode de Lœffler, on voit que l'opalescence est due à des cultures microbiennes variées.

Les microbes qui passent le plus ordinairement sont des vibrions très polymorphes dont certains individus sont à la limite de la visibilité, reconnaissables à la présence d'un cil vibratile unique ; sous ces formes minimales, ils peuvent passer à travers les pores ; la culture montre ensuite des vibrions de dimensions variables quoique elle paraisse tout à fait pure.

Dans d'autres cas, ce sont des formes spirillaires qui passent, et la culture montre de très longs filaments très grêles, invisibles à l'état frais, assez semblables aux spirilles de la fièvre récurrente, ou aux spirilles des Oies.

Une fois, j'ai eu la culture d'un microcoque excessivement petit pourvu de nombreux cils vibratiles (8 à 10).

Le milieu filtrat épithélial claveleux paraît convenir très bien à toutes ces formes vibrioniennes mobiles.

Dans ce même milieu, j'ai constaté une fois la présence, en culture pure, d'éléments microbiens très particuliers que je considère comme appartenant au groupe des Protozoaires, et pour lesquels je propose le nom de *Micromonas Mesnili*.

La culture est très abondante; on peut l'obtenir en colonies sur le milieu filtrat claveleux solidifié par la gélose. Les figures reproduites ci-dessous montrent la morphologie de ce microbe. ce sont très ordinairement des éléments ovoïdes allongés de 1/4 μ de largeur sur 3 à 4 μ de longueur, munis de deux cils trapus, plus gros que des cils de bactéries, plus rigides, colorables directement sans mordant par la fuchsine phéniquée; dans le corps ovoïde du microbe, on distingue un noyau très net qui a pu être mis en évidence par la méthode de Laveran.



Micromonas Mesnili 7000/1.

Ces éléments se divisent *longitudinalement* et les figures montrent des divisions en 2, 3 ou un plus grand nombre d'éléments; les figures 3, 4, 5 sont particulièrement fréquentes et montrent les différents moments de la division précédée de la division du noyau (3). Quelquefois on constate un renflement à l'extrémité d'un cil (6, 6'); des formes amæboïdes peuvent être rencontrées (9).

A cause de la présence d'un noyau défini, à cause des caractères des cils, du mode de division longitudinale qui rapproche cet organisme des Flagellés, je suis tout disposé à le considérer comme un Protozoaire. Il peut être obtenu en cultures successives.

Ce doit être le plus petit des protozoaires connus.

Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.